Die Meinicke-Reaktion mit sofortigem Zentrifugieren und gefärbtem Antigen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der Philipps-Universität zu Marburg

vorgelegt von

Karl Schlüter
Medizinalpraktikant aus Hallenberg

Marburg 1931

Buchdruckerei von Joh. Hamel, Marburg

Angenommen von der medizinischen Fakultät Marburg
am 13. Dezember 1930.

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät.

Referent: Professor Dr. Ruete.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Bald nach Auffindung der *Wassermann*schen Reaktion setzten Versuche ein, die umständliche Technik des Komplementbindungsverfahrens durch einfachere und billigere Methoden zu ersetzen, ohne daß diese Bestrebungen zunächst zu praktisch verwertbaren Ergebnissen führten. *Meinicke* gebührt das Verdienst, als erster eine für die Praxis brauchbare Flockungsmethode zur Serodiagnose der Syphilis angegeben zu haben. Seither ist eine ganze Reihe von Trübungs- und Flockungsreaktionen beschrieben worden, und eine oder mehrere dieser Methoden, die durch Namen wie *Bruck, Dold, Hecht, Sachs-Georgi, Meinicke* u. a. m. gekennzeichnet sind, werden heute in jedem serologischen Laboratorium neben der WaR regelmäßig ausgeführt. Ueber den Wert und die Anwendungsbreite aller dieser Reaktionen liegen heute so zahlreiche Nachuntersuchungen vor, daß man sich schon jetzt ein abschließendes Gesamturteil erlauben kann. Alle ebengenannten Reaktionen haben die WaR nicht vollkommen zu ersetzen vermocht; aber sie haben uns doch eine wesentliche Bereicherung dadurch gebracht, daß durch die Ausführung einer oder mehrerer von ihnen neben der WaR eine große Zuverlässigkeit und eine weitgehende Erfassung des luetischen Materials ermöglicht wird.

Unter den Trübungsreaktionen zur Serodiagnose der Lues stellt *Meinickes* Trübungsreaktion (MTR) wegen ihrer technischen Einfachheit und großen Zuverlässigkeit eine besonders geschätzte und häufig ausgeführte Methode dar.

Die spanischen Forscher *Sainz de Aja* und *Nicolas Calvin* (Madrid) haben die MTR durch Verwendung von gefärbtem Antigen und Zuhilfenahme des Zentrifugierverfahrens zu einer besonders schnellen („Ultrarapid") Methode ausgebaut. Diese von ihnen im Jahre 1929 veröffentlichte, in der Literatur bisher nicht nachgeprüfte Methode zu untersuchen, ist der Zweck der vorliegenden Arbeit.

Zunächst sei ein kurzer Ueberblick über die geschichtliche Entwicklung der *Meinicke*-Reaktion bis zu dem heutigen Stand der MTR gegeben. Im Jahre 1917 gab *Meinicke* drei

Methoden an, die in einfacher Weise eine Serumdiagnose der Syphilis ermöglichen sollten. Die beiden ersten von ihnen, die sog. Wassermethode und Kochsalzmethode, waren von großer Bedeutung, da sie auf Grund der Prüfung an einem größeren Material zum ersten Mal den Beweis erbrachten, daß Flockungsreaktionen grundsätzlich für die Serodiagnose der Syphilis brauchbar sind. Beide Methoden waren durch ein besonderes methodisches Prinzip ausgezeichnet, nämlich die Zweizeitigkeit der Versuchsanordnung, und *Meinicke* glaubte, darin einen besonderen Vorteil erblicken zu müssen. Wasser- und Kochsalzmethode haben keinen Eingang in die Praxis gefunden. Sie wurden bald von *Meinicke* selbst verlassen und haben heute nur noch historisches Interesse als Vorstufen zur „Dritten Modifikation" (D M), die große praktische Bedeutung erlangte.

Im Gegensatz zur Wasser- und Kochsalzmethode baute *Meinicke* die D M zu einer einzeitigen Reaktion aus, da inzwischen *Sachs* und *Georgi* bei ihrer Flockenreaktion das Prinzip der Einzeitigkeit als für die Praxis brauchbarer erwiesen hatten. Als Extrakt benutzte *Meinicke* für die D M einen sogenannten Pferdeherz-Aether-Restextrakt. Die Reaktion, die dadurch charakterisiert ist, daß das System viel Kochsalz enthält, hat sich in der Praxis als eine brauchbare und mit der WaR gut übereinstimmende Reaktion erwiesen und wird auch heute wohl noch in einigen Laboratorien ausgeführt. Wenn sie im allgemeinen gegenüber der MTR später in den Hintergrund getreten ist, so liegt das in der Hauptsache an der größeren Einfachheit und kürzeren Dauer der neuen Reaktion.

Bei den Flockungsreaktionen zur Serodiagnose der Lues findet beim Zusammenwirken von Lipoidextrakt und syphilitischem Serum ein Präcipitationsvorgang statt, während dessen, noch bevor eine sichtbare Ausflockung erscheint, sich das äußere Aussehen der Flüssigkeit ändert; die vorher klare Flüssigkeit wird zuerst immer trüber, und erst nach dem Ausfallen und Zubodensinken der

Flocken wird sie wieder klarer. Bei den bisher besprochenen Flockungsreaktionen *Meinickes* wird das Endstadium der Ausflockung zur Diagnose allein verwertet, da die vorausgehende Trübung sich unter gewöhnlichen Voraussetzungen nicht so stark gestaltet, daß sie zur Diagnose herangezogen werden kann.

Dold gab als erster im Jahre 1921 eine Versuchsanordnung an, bei der bereits die entstehende Trübung als Ausdruck einer beginnenden Reaktion diagnostisch gewertet wird. (Trübungsreaktion von *Dold* D R). „Die Reaktion ermöglicht direkt makroskopisch Einblick in den ganzen Ablauf des zwischen Luesserum und Extrakt sich abspielenden Präcipitationsvorganges zu gewinnen, da die WaR nur den Anfang, die bisherigen Flockungsreaktionen nur das Ende dieses Präcipitationsvorganges berücksichtigen."

Meinicke versuchte, das von *Dold* eingeführte Prinzip der Frühablesung im Trübungsstadium in seine Flockungsreaktion zu übernehmen und durch Zusatz von Cholesterin seine Extrakte so zu gestalten, daß sie sich für eine Trübungsreaktion eigneten. Als Extrakt benutzte *Meinicke* ursprünglich einen Pferdeherz-Aether-Restextrakt wie zur D M. Die Reaktion (MTR_I) wurde in der Weise ausgeführt, daß man den Extrakt nach Zusatz von Cholesterin mit 2%iger Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 schnell verdünnte. Von dieser Extraktverdünnung wurden 2 ccm zu 0,4 ccm $^1/_4$ Stunde bei 55° inaktivierten Serums hinzugefügt. Die Ablesung der Trübung erfolgte nach 2—3 stündigem Brutschrankaufenthalt.

Da sich bei dieser Reaktion der Extrakt als zu unempfindlich erwies, um in allen Fällen eine genügende Trübung bei positiven Seren herbeizuführen, suchte *Meinicke* die Methode dadurch zu verbessern, daß er dem Extrakt zur Verstärkung noch Tolubalsam zusetzte (MTR_{II}). Zwar konnte *Meinicke* mit einem solchen Extrakt schon nach einer Stunde eine deutliche Trübung in allen positiven

Seren herbeiführen, indessen erwies sich das spezifische Verhalten der Reaktion als nicht genügend gewahrt.

Erst durch eine weitere Verbesserung gelang es *Meinicke* und *Grün*, auch diesen Mangel zu beseitigen und diejenigen Bedingungen zu ermitteln, die für die jetzt gebräuchliche Anordnung der MTR optimal zu sein scheinen. Diese Verbesserung betraf folgende Punkte:

1. Die Herstellung der Extrakte: *Meinicke* sagt sich bei dieser neuen MTR_3 genannten Modifikation von dem Prinzip der Cholsterinierung los und fügt dem alkoholischen Pferdeherzextrakte nur noch Tolubalsam zu.

2. Die Frage der Inaktivierung: Im Gegensatz zu allen bisherigen Methoden empfiehlt *Meinicke* für die MTR_3, die Sera prinzipiell aktiv zu untersuchen, da die durch das Inaktivieren hervorgerufene Stabilisierung die Gefahr unspezifischer Ausschläge vermehrt.

3. Einwirkungszeit und Temperatur: *Meinicke* verzichtet bei der MTR_3 auf Brustschrankaufenthalt und liest nach einer Stunde bei Zimmertemperatur ab.

Die Ausführung der MTR_3 (weiterhin der Einfachheit halber MTR genannt) soll nach der Vorschrift *Meinickes* grundsätzlich mit 2 Extrakten, einem dichteren und einem dünneren, geschehen. Die Extraktverdünnungen werden mit 3%iger Kochsalzlösung in der Weise hergestellt, daß die abgemessenen Mengen Extrakt (1 ccm) und Kochsalzlösung (10 ccm) in einem Wasserbade auf 45° vorgewärmt und dann möglichst rasch miteinander gemischt werden. Diese Extraktverdünnungen sind unmittelbar nach der Mischung in der Aufsicht milchig trübe, in der Durchsichtigkeit aber noch klar; sie trüben verhältnismäßig rasch nach und müssen daher sofort mit vorgewärmten Pipetten zu den vorher in Reagensgläser eingefüllten abgemessenen Mengen gut zentrifugierten aktiven Serums hinzugefügt werden, und zwar 1 ccm Extraktverdünnung auf 0,2 ccm Serum. Die Extraktserumgemische werden mit der Hand gut geschüttelt und bleiben dann eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Danach liest man das Ergebnis der

Reaktion unter Verwendung der Trübung ab, indem man aus 2—3 m Entfernung gegen ein helles Fenster sieht. In den negativen Röhrchen ist die Flüssigkeit klar, durchsichtig und opaleszierend geblieben, während die positiven eine mehr oder weniger starke Trübung aufweisen. Eine zweite, nach *Meinicke* endgültige Beurteilung erfolgt nach 2 Stunden Aufenthalt bei Zimmertemperatur.

Eine Kontrollreaktion wird zweckmäßig in der Weise ausgeführt, daß man in einer dritten Versuchsreihe zu den abgemessenen Serummengen vor Hinzugabe der Extraktverdünnung je einen Tropfen Handelsformalin zusetzt, das nach einer Einwirkung von wenigen Minuten die Reaktionsfähigkeit des Syphilitikerserums mit den Extraktlipoiden verhindert. Indessen wird der Geübtere auf das Ansetzen der Kontrollreaktion im allgemeinen verzichten können, da schon der Vergleich der positiven und negativen Reaktionen genügend klare Unterschiede zeigt.

Eine Mikromethode der MTR hat zuerst *Dohnal* angegeben. Er mischte Serum und eine wie zur Makromethode hergestellte Extraktverdünnung in der Leukozytenmischpipette und stellte von der Mischung ein Präparat her, das nach einstündigem Verweilen bei Zimmertemperatur mit dem Dunkelfeldkondensor beobachtet wurde. Bei negativen Seren sieht man in großer Zahl lebhaft bewegliche Mikronen, die keine Neigung zum Zusammenschluß zeigen, auf milchigem Grunde; bei positiven Seren mehr oder weniger zahlreiche, flockige, stark lichtbrechende Konglomerate im schwarz erscheinenden Gesichtsfeld.

Neuerdings hat *Meinicke* eine weitere Syphilisreaktion angegeben. Sie wird als Klärungsreaktion bezeichnet, weil als positives Ergebnis die durch die Sedimentierung der Flocken entstandene Klärung der Zwischenflüssigkeit gewertet wird. Im Grunde handelt es sich natürlich auch bei der Klärungsreaktion um eine Ausflockungsreaktion, bei der nur eben die durch die Ausflockung hervorgerufene Klärung zur Diagnose herangezogen wird.

Seit der Einführung der MTR in die Serodiagnose

der Syphilis zu Anfang des Jahres 1923 wurde die Reaktion zahlreichen Nachprüfungen unterzogen, und sie hat, wie man den bisherigen Berichten entnehmen kann, wohl ungeteilte Anerkennung gefunden. Die übergroße Mehrzahl der Autoren betont die der WaR überlegene Reaktionsbreite, die sich besonders deutlich bei Fällen von Lues latens, teilweise auch bei Lues I und II zeige, bei gleichzeitig bestehender sonst guter Uebereinstimmung mit der WaR.

Größere Differenzen in den Untersuchungsergebnissen findet man, wenn man auf die Frage der unspezifischen Reaktionen eingeht. Einige Nachuntersucher finden nur selten Seren, die nach der MTR positiv reagieren, während sich für eine bestehende oder latente Lues keine Anhaltspunkte finden. Andere Autoren dagegen betonen wiederum besonders die gelegentliche Unspezifität. Im ganzen gehen die Meinungen der Untersucher dahin, daß die MTR zwar keinen Ersatz, aber eine wertvolle Ergänzung der WaR darstellt.

Alle Nachuntersucher rühmen die einfache Technick der MTR, ohne aber so weit wie *Meinicke* selbst zu gehen, der glaubt, sie auch dem serologisch etwas geschulten praktischen Arzt in die Hand geben zu dürfen. Mehrere Untersucher sind von der Original-MTR insofern abgewichen, als sie die von *Meinicke* angegebene Ablesungszeit verlängerten und bei der als Trübungsreaktion ausgearbeiteten Methode auch die der Trübung folgende Flockung registrierten. Da *Meinicke* seine Reaktion ausdrücklich als Trübungsreaktion bezeichnet, als solche eingestellt hat und den Reaktionsablauf nach 2 Stunden als beendet erklärt, mußten die von vielen Autoren ungleich gewählten Ablesungszeiten — die angegebenen Ablesungszeiten liegen zwischen der 2. und 48. Stunde — eine gewisse Unsicherheit in der Bewertung der Ergebnisse mit sich bringen. Es ist wohl kaum zweifelhaft, daß die von *Meinicke* auf 2 Stunden begrenzte Ablesungszeit für manche Seren zu kurz zu nennen ist. Es finden sich nicht selten spezifische

Trübungen erst in den darauffolgenden Stunden. *Elkeles* hat daher empfohlen, einer Ablesung als Trübung nach weiterem Aufenthalt der Röhrchen über Nacht bei Zimmertemperatur eine Ablesung als Flockungsreaktion in Gestalt der sog. „Kuppenablesung" folgen zu lassen. *Meinicke* selbst, der die Ausführungen *Elkeles's* zunächst bekämpfte, hat sich ihnen inzwischen angeschlossen, nachdem er gesehen hatte, daß sich die neuerdings auch für die MTR benutzten Rinderherzextrakte in sehr schöner Weise zur Kuppenablesung eigneten.

Ein Nachteil, den die MTR mit allen Ausflockungsreaktionen gemeinsam hat, ist die Schwierigkeit und Unsicherheit der Ablesung der Trübung. Eine technische Schwierigkeit bei der Trübungsablesung besteht schon in der Vorschrift *Meinickes*, daß man das Ergebnis gegen ein helles Fenster ablesen soll. Bei schlechtem Tageslicht und bei künstlicher Beleuchtung ist die Trübungsablesung unmöglich. Gerade an lichtarmen Tagen wie in den Wintermonaten ist man daher zur Ablesung der MTR auf wenige Stunden angewiesen. Von diesem Nachteil werden viel weniger die Institute betroffen, deren Hauptarbeit serologische Untersuchungen sind, als gerade diejenigen Aerzte, die sich für derartige Untersuchungen nicht an bestimmte Stunden binden können, denen aber doch die Reaktion durch die Einfachheit ihrer Methode etwas Besonderes bieten kann und soll. Ein anderer Nachteil, der der Methode anhaftet, ist die Unsicherheit in der Beurteilung des Untersuchungsergebnisses, d. h. des Grades der Trübung. Sie ist neben der Güte der „hellen Fenster" auch sehr von der Erfahrung des Untersuchers abhängig. Gerade der weniger Geübte wird oft ein Gefühl der Unsicherheit nicht los. Vermehrt wird diese Schwierigkeit noch dadurch, daß sich in chylösen Seren häufig Trübungen durch Fett finden, die fälschlich eine positive Reaktion vortäuschen können. Schwer ist die Beurteilung der Reaktionsergebnisse stets in ikterischen und hämolytischen Seren. Ferner ist bekannt, daß sich in sicher negativen Seren

von der 6. bis 7. Stunde an nicht selten staubartige Sedimentierungen zeigen, die den Reaktionsausfall zweifelhaft erscheinen lassen.

Um die aus all den eben genannten Gründen sich ergebende Unsicherheit beim Ablesen der MTR zu beseitigen, insbesondere alle subjektiven Auslegungen zu unterdrücken, hat *Borowskaja* (Bakteriologisches Zentralstaatsinstitut, Moskau) in einer sehr interessanten unter dem Titel „die MTR mit gefärbtem Antigen" am 15. II. 1928 erschienenen Arbeit vorgeschlagen, für die Ausführung der MTR ein gefärbtes Antigen zu benutzen.

Farbenversuche und Farbenmodifikationen bei Ausflockungsreaktionen sind schon früher angegeben worden. *Meinicke* stellte bei seiner Kochsalzmethode Farbversuche an mit dem Ziel, Lipoide mit Fettfarben, das Serum mit Eiweißfarben zu färben. Die Versuche *Meinickes*, der mit Sudan IV und Scharlachrot arbeitete, schlugen fehl, sodaß *Meinicke* den lipoiden Charakter der entstehenden Flocken anzweifelte und Eiweißabbauprodukte für die Träger der Reaktion ansprach.

Ueber mißlungene Farbenversuche bei der SGR berichten *Joel* und *Tannenberg*.

Dold versuchte durch Zusatz von geeignetem Farbstoff zu den Organextrakten seine Trübungsreaktion deutlicher zu gestalten. Von zahlreichen untersuchten Farbstoffen erwiesen sich Nilblau und Kongorubin noch am ehesten brauchbar. Im ganzen aber konnte *Dold* durch die Farbstoffzusätze das Trübungs- und Flockungsphänomen nicht deutlicher zur Erscheinung bringen und nahm von weiteren Versuchen Abstand, vor allem auch deswegen, weil infolge der wechselnden Eigenfarbe der Sera Mischfarben von wechselndem Aussehen zustande kamen, welche das Ablesen der Resultate weiter erschwerten.

Hecht versuchte durch Färbung der Flocken bei seiner Reaktion und bei der SGR einerseits die Flockung sichtbarer zu machen, anderseits voluminöser zu gestalten

durch Mitreißen der Farbenkolloide bei der Ausflockung des Antigens. Bei der *Hecht*'schen Flockungsreaktion gab die Färbung mit Gentianaviolett schöne und spezifische Resultate; bei der SGR erwiesen sich Gentianaviolett und Sudan brauchbar.

Ueber erfolgreiche Farbenversuche bei der DM und SGR mit Sudan III berichtet *Kafka*.

Eine größere Reihe von Farbversuchen mit der SGR, DR, DM und MTR_2 unternahm *Mierzecki* (Univ. Hautklinik Lemberg, 1923). Er untersuchte verschiedene Farbstoffe, wie Safranin, Methylenviolett, Krytallviolett, Auramin, Nilblausulfat, Fuchsin und Gentianaviolett in Kochsalzlösungen und Vesuvin, Neutralrot und Sudan in alkoholischen Lösungen. Diese Farbenversuche zeigten sich bei der SGR ohne Erfolg. Mit dem bloßen Auge konnte das Resultat in keinem Falle abgelesen werden. Bei der DR konnten nur im Agglutinoskop schwach gefärbte Flocken nachgewiesen werden.

Die Anwendung von wässerigen Nilblaulösungen bei *Meinickes* DMR gab zufriedenstellende Resultate. Man konnte eine intensive Färbung der Flocken bei gleichzeitig schwächerer Färbung der Flüssigkeit erhalten.

Bei den farbigen Versuchen mit der MTR_2 hatte sich als der geeignetste Farbstoff das Safranin erwiesen, und diesen Farbstoff verwendete *Mierzecki* zu der von ihm beschriebenen Farbenflockungsreaktion der MTR_2. Seine Technik dabei war folgende: Farbstofflösung: 0,1 ccm Safranin wird in 1000 ccm 2%iger Kochsalzlösung gelöst und als Stammlösung benutzt. Für den Hauptversuch wird die Farbstoffkochsalzstammlösung bis 1 : 300000 verdünnt. Ohne vorheriges Anwärmen des Extraktes, der Kochsalzlösung und der Gefäße im Brutschrank wird 0,1 ccm Balsamextrakt mit 0,9 ccm der bereits vorbereiteten Safraninkochsalzlösung verdünnt und gut durchgemischt. Nachher wird 1 ccm dieser Extraktverdünnung rasch zu 0,4 ccm des bei 37° 15 Min. lang im Wasserbade inakti-

vierten Serums zugefügt, nach gutem Schütteln im Wasserbade bei 37° 30 Min. lang erwärmt und dann bei Zimmertemperatur für weitere 30 Min., 60 Min. und 3 Stunden stehen gelassen. Die Ablesung findet als Flockungsniederschlagsreaktion mit bloßem Auge statt. Nach 30 Min. Zimmertemperatur zeigen die positiven Sera einen kleinen unverkennbar roten Niederschlag. Nach einer Stunde kann auch die disperse Flockung oft mit dem bloßen Auge, sonst mit der Lupe abgelesen werden. Nach 3 bis 4 Stunden tritt in den stark positiven Seren eine Aufhellung der Flüssigkeit ein; die schwach positiven dagegen zeigen nur einen Niederschlag, während Aufhellung und disperse Flockung ganz fehlen können. Die negativen Röhrchen zeigen weder Niederschlag, noch disperse Flockung.

Mierzecki kommt bei seinen Versuchen zu dem Schluß, daß die Farbenmodifikation sehr brauchbare Ergebnisse liefert, die MTR_2 vereinfache und verkürze und als bequeme, billige und auch dem praktischen Arzt ohne serologische Ausbildung zugängliche Methode von Nutzen sei. In der Literatur hat die Farbenflockungsreaktion *Mierzeckis* keine Beachtung gefunden; wenigstens wird über Nachprüfungen nirgends berichtet.

Im Jahre 1925 erschien aus der Universitäts-Hautklinik Marburg eine Arbeit von *Post* über die MMR (Meinicke-Mikroreaktion). Darin wird über die Versuche berichtet, die Präparate zu färben und sie ohne Dunkelfeld mikroskopisch zu untersuchen. Es gelang mit keinem der zahlreichen Farbstoffe (u. a. Fuchsin, Gentianaviolett, Methylenblau, Viktoriablau) eine klare Durchfärbung der Flocken zu erzielen. Fixieren mit Methylalkohol vor der Färbung hatte auf dieselbe keinen Einfluß. Ebensowenig führte gleichzeitiges Zusetzen der Farbstofflösungen zu dem fertigen Ausstrich in der Weise, daß ein Tropfen Serum, ein Tropfen Farbstoff und 3 Tropfen Extraktgemisch mit einem 4. Tropfen Extraktverdünnung auf dem Objektträger verrieben wurden, zu eindeutigen Ergebnissen.

Farbenversuche stellte bei der MTR mit gutem Erfolg *Herxheimer* an. Nachdem er zunächst mit Fuchsin, Methylviolett, Astra-Phloxin und Sudan II gearbeitet, aber keine befriedigenden Resultate erhalten hatte, verwendete er mit Erfolg Astraviolett, einen von der I. G. Farbenindustrie neuerdings herausgebrachten Farbstoff. *Herxheimer* untersuchte 2000 Seren nach seiner Methode und fand, daß dieselbe gute Resultate lieferte und der gleich zu besprechenden *Borowskaja*schen Methode bei der Ablesung des Reaktionsausfalles überlegen ist. Es handelt sich bei der *Herxheimer*schen Methode um eine Trübung, die schon nach $^3/_4$ bis 1 Stunde abzulesen ist. *Meinicke* hat inzwischen die *Herxheimer*sche Methode nachgeprüft und empfiehlt sie sehr.

Borowskaja wählte bei ihren schon oben erwähnten Farbenmodifikationsversuchen der MTR als geeignetsten Farbstoff Viktoriablau. Vorversuche hatten gezeigt, daß, dank der starken Affinität des Viktoriablau zu den Lipoiden, die Flocken der MTR sehr intensiv den Farbstoff aus der Flüssigkeit an sich ziehen. Es blieb nur noch übrig, die bequemste Art zu finden, die Farbe in die Reaktion einzuführen. Zuerst versuchte *Borowskaja*, das Antigen mit Salzfarblösung zu verdünnen. Die Salzlösungen der Farbe waren aber zu sehr labil. Dann versuchte sie, das Antigen mit Alkohollösungen des Farbstoffes zu färben. Dieses Verfahren erwies sich als zu kompliziert. Schließlich entschied sich *Borowskaja* dafür, den Farbstoff in Substanz zum Antigen selbst hinzuzufügen, mit nachfolgender üblicher Verdünnung des bereits gefärbten Antigens. Dieses Verfahren hat sich als das einfachste und geeignetste herausgestellt.

Die Zusammensetzung des von *Borowskaja* verwendeten Antigens ist folgende: Pferdeherzextrakt 400, Alkohol 95% 400, Cholesterin 1% 150, Tolubalsam 10% 50. Die Mengen von Cholesterin und Tolubalsam waren in einigen Extrakten verschieden.

Die Brauchbarkeit des Antigens wird erprobt an syphilitischen und normalen Seren vor und nach dem Hinzufügen des Farbstoffes. Seine spezifischen Eigenschaften müssen vor und nach dem Hinzufügen die gleichen sein. Uebermäßiger Farbstoffzusatz führt zu unspezifischen Reaktionen, zu schwach gefärbtes Antigen läßt die Farbreaktion zu schwach hervortreten. Die besten Resultate fand *Borowskaja* nach Hinzufügen von 0,1—0,2 Viktoriablau zu 250 Teilen Antigen.

An der Technik der MTR änderte *Borowskja* bei der Ausführung mit gefärbtem Antigen nichts. Die Temperatur mit der das Antigen und die Salzlösung, die zum Verdünnen dient, angesetzt werden, die Art, in der die Mischung vorgenommen wird, die Konzentrierung der Salzlösung, die Verteilung der Lösung auf die Röhrchen, das Verhältnis der Lösung zu den zu untersuchenden Seren, alles geschieht in derselben Weise wie bei der Original MTR. Die Ablesung bei der Methode von *Borowskaja* wird 24 Stunden nach der Mischung der Antigenlösung mit den Seren vorgenommen und richtet sich nach dem Grad der Ausflockung und der Entfärbung der Flüssigkeit. In negativen Fällen bewahren die Röhrchen ihr ursprüngliches Aussehen und sind blau gefärbt. In stark positiven Fällen ist die Flüssigkeit farblos, auf dem Boden aber befindet sich ein blauvioletter Bodensatz. Die schwach positiven Fälle nehmen eine mittlere Stellung ein; die Flüssigkeit ist mehr oder minder intensiv blau gefärbt, auf dem Boden liegen violettgefärbte Flocken. Je mehr Flocken sind, desto stärker entfärbt erscheint die Flüssigkeit. Zur Feststellung eines endgültigen Urteils hat man sich demnach nach zwei Merkmalen zu richten: nach der Entfärbung der Flüssigkeit und der Bildung eines farbigen Bodensatzes. Deshalb ist auch die Untersuchung von trüben und abnorm gefärbten Seren möglich. *Borowskaja* untersuchte mit dem gefärbten Antigen und nicht gefärbten Antigen 158 positive und 390 negative Sera und erhielt mit beiden Antigenen ein gleiches

Resultat. Die Zahl der von der WaR abweichenden Resultate war dieselbe wie bei der Original MTR.

Beim Studium der Wirkung verschiedener Lösungsmittel auf die gefärbten Flocken hatte *Borowskaja* für das Chloroform folgende Tatsachen festgestellt:

1. Wirkung des Chloroforms auf das gefärbte Antigen: fügt man zu dem in üblicher Weise verdünnten gefärbten Antigen 1—2 ccm Chloroform, so senkt sich dasselbe auf den Boden und extrahiert allmählich den Farbstoff aus der oberen Schicht. Die Extraktion geht langsam vor sich und dauert 2—3 Stunden. Nach der Extraktion ist die obere Schicht farblos, die untere (Chloroform) dagegen intensiv blau.

2. Wirkung von Chloroform auf das Gemisch von Antigen und Normalserum: Zu diesem Gemisch hinzugefügt, extrahiert das Chloroform den Farbstoff nicht. Die obere Schicht bleibt blau gefärbt ohne irgend eine Veränderung, die Chloroformschicht farblos.

3. Wirkung des Chloroforms auf das Gemisch von Antigen und Luesserum: Sofort nach Hinzufügen von Chloroform zum Gemisch (nach erfolgter Ausflockung) färbt sich das erstere violettblau, indem es den Farbstoff aus den Flocken extrahiert.

Das Normalserum hemmt also die extrahierende Wirkung des Chloroforms auf den Farbstoff, dagegen befördert das Luesserum dieselbe.

Diese Tatsachen erlaubten *Borowskaja*, der Farbenreaktion eine noch sichtbarere Form zu geben. Ohne ihre Ausführung in irgend einer Weise zu ändern, fügte sie der Mischung von Antigenserum nach Ablauf von 24 Stunden und unmittelbar vor der Ablesung der Resultate 1 ccm Chloroform hinzu. In den positiven Fällen färbt sich das Chloroform blau und der Inhalt der Röhrchen bildet zwei Schichten: die obere von Serum, und die untere von Chloroform. Die letztere bleibt in negativen Fällen vollkommen farblos und in den positiven Fällen je nach der Stärke der Reaktion mehr oder weniger gefärbt.

Die *Borowskaja*'sche Technik ist inzwischen mehrfach nachgeprüft worden. *Klingberg, Stepowski* und *Worblewski, Occhioni, Ciarrochi, Kirchner, Perantoni-Satta, Sainz de Aja,* u. a. loben die gefärbte MTR, insbesondere das deutliche Hervortreten auch schwacher Reaktionen und die brauchbaren Resultate, die die gefärbte MTR bei chylösen, ikterischen und hämolytischen Seren gibt.

Cattaneo hingegen, der die gefärbte Reaktion an 185 Seren untersuchte, sieht in der *Borowskaja*'schen Methode keinen Vorteil, da sie keine besseren Resultate als die einfache MTR ergibt.

Meinickes Erfahrungen mit der *Borowskaja*'schen Methode gehen dahin, daß die gefärbte Reaktion nicht ganz so scharf ist als die ungefärbte. Die Unterschiede seien allerdings nur ganz geringfügig. Bei der Farbenmodifikation der MTR nach *Borowskaja* finden wir einen Nachteil, und zwar den, daß die Ablesung der Trübung erst nach 24 Stunden erfolgen kann. *Sainz de Aja* und *Nicolaus Calvin* haben diesen Mangel durch Zuhilfenahme des Zentrifugierverfahrens zu beheben versucht.

Zum ersten Mal wurde das Prinzip der Zentrifugiermethode von *Jakobsthal* (1909) in die Luesdiagnostik eingeführt. Dieses geschah allerdings nicht zu diagnostischen Zwecken, sondern um zu prüfen, ob der WaR als letzte Ursache eine Präcipitation zu Grunde läge, wie damals von vielen Seiten behauptet worden war.

Für die Luesflockungsreaktion hat zur Beschleunigung des Reaktionsablaufes bei der SGR und DM *Gaethgens* die Zentrifugiermethode empfohlen.

Ruete hat den Einfluß der von *Gaethgens* angegebenen Zentrifugiermethode auf den Reaktionsablauf von *Meinickes* DM an einer großen Zahl von Seren nachgeprüft. *Ruete* ging bei seinen Untersuchungen so vor, daß er ältere und frische Meinickeansätze zentrifugierte. Die Ansätze, die schon eine Zeit lang gestanden hatten oder vorher in den Brutschrank gebracht waren, flockten im Ueber-

maß und unspezifisch, die frischen Ansätze dagegen flockten spezifisch. *Ruete* erhielt jedoch auch einige vom Hauptversuch abweichende Flockungen. Er empfiehlt daher die Zentrifugiermethode bei der DM für die Praxis nicht, da sie zu viele unspezifische Resultate ergibt. Dagegen hält *Ruete* die Zentrifugiermethode für theoretisch bedeutsam, da sie vielleicht dazu beitragen kann, unsere physikalischen Vorstellungen über das Wesen des Flockungsvorganges zu verbessern.

Prinzipielle Anwendung hat das Zentrifugierverfahren bisher nur bei der *Bruck*'schen Reaktion gefunden.

Für die ungefärbte MTR hatten *Sainz de Aja*, *Alvarez* und *Calvin* schon 1928 die Zentrifugiermethode vorgeschlagen, nachdem sie selber gute Erfolge damit gesehen hatten.

Ueber das Zentrifugierverfahren bei der gefärbten MTR (Borowskaja'schen Methode) haben *Sainz de Aja* und *Calvin* folgende Angaben gemacht: Als Antigene werden die Original Meinicke Extrakte Nr. 82 (stark) und Nr. 77 (schwach) verwendet, zu denen nach der *Borowskaja*'schen Methode Viktoriablau in den angegebenen Mengen hinzugefügt wird. In gut verschlossenen Flaschen oder an dunklem Ort kann man das gefärbte Antigen sehr lange aufbewahren. Man kann es Monate hindurch verwenden, ohne daß es an Wirksamkeit einbüßt. Im Einzelnen wurde die Reaktion folgendermaßen ausgeführt: Zunächst werden 0,2 ccm aktiven Serums auf die Versuchsröhrchen verteilt. Die Verdünnung des Antigens wird in derselben Weise ausgeführt wie gewöhnlich; man mißt in ein Kölbchen oder weites Reagenzrohr das nötige Antigenquantum ab, in ein zweites das zehnfache Quantum 3%iger Kochsalzlösung. Beide Gefäße werden in einem Wasserbad auf 45° 10 Min. lang angewärmt. Dann wird die Kochsalzlösung auf einmal in das Antigen hineingegossen. Das verdünnte Antigen stellt eine Emulsion mittlerer Trübung dar, blau gefärbt mit rosa schimmernder

Oberfläche. (Die Emulsion ist ziemlich stabil, bei 37° wird keine Farbstoffausflockung in den ersten 24 Stunden beobachtet; bei Zimmertemperatur fallen oft gefärbte Flocken aus). Dann wird die Lösung von gefärbtem Antigen schnell auf die Reaktionsröhrchen, welche schon die Seren enthalten, verteilt, und zwar auf jedes Röhrchen 1 ccm der Antigenlösung. Darauf werden die Röhrchen mit der Hand einige Sekunden lang geschüttelt, um eine gründliche Mischung zu erzielen; sie bleiben dann 10—15 Min. stehen und werden danach 5 Min. lang zentrifugiert, worauf das Ablesen der Resultate erfolgt.

Die erste Ablesung erfolgt nach dem Grade der Entfärbung der Flüssigkeit, ohne Rücksicht auf die Menge des Bodensatzes, der sich in allen Röhrchen bildet, in stärkerem Maße natürlich in denjenigen mit positiver Reaktion. Daraufhin wird sofort eine 2. Ablesung vorgenommen: jedes Röhrchen wird solange mit der Hand geschüttelt, bis sich der beim Zentrifugieren entstehende Bodensatz mit der Flüssigkeit mischt. Die negativen Röhrchen erscheinen jetzt undurchsichtig und von tiefblauer Farbe, da sich der Bodensatz in der Flüssigkeit gelöst hat. Bei den positiven Röhrchen löst sich der Bodensatz in der Flüssigkeit nicht wieder auf. Sie erscheint durchsichtig und mehr oder minder farblos, der Bodensatz schwimmt darin in Form von kleinen Punkten von dunkelblauer Farbe, die, wenn man die Röhrchen ruhig stehen läßt, nach einiger Zeit sich wieder auf dem Boden sammelt.

Läßt man die Röhrchen bei einer Temperatur von 25°—28° ruhig stehen und liest die Ergebnisse nach 48 Stunden ab, so kann man zwei ganz ähnliche Ablesungen vornehmen: eine erste durch spontanes Niedersinken der gefärbten Flocken, die die sogenannte Kuppe von *Elkeles* bilden. Diese Kuppe ist dem Bodensatz gleich zu setzen, der sich nach 5 Minuten langem Abschleudern bildet. In dieser Phase bemerkt man: vollständige Entfärbung (++++),

ausgesprochene Entfärbung (++) oder leichte Entfärbung (+), die man indessen auch noch gut wahrnehmen kann. Im Gegensatz dazu sieht man auf der anderen Seite eine völlig gleichmäßig dunkelblau gefärbte Flüssigkeit (−). Bodensatz bildet sich in allen, auch den negativen Röhrchen. Schüttelt man dann die Röhrchen wieder, um zu mischen und die *Elkeles*-Kuppe zu zerstören, so erhält man eine Wiederholung der 2. Ablesung.

Sainz de Aja und *Calvin* änderten diesen 2. Teil der Reaktion dadurch, daß sie nach der Methode von *Borowskaja* unmittelbar nach der 2. Ablesung jedem Röhrchen 0,5 ccm Chloroform zusetzten. Dieses senkt sich auf den Grund und bildet dort eine farblose Flüssigkeit, während darüber eine mehr oder weniger tief blaue, undurchsichtige Flüssigkeit steht. Nach 24 Stunden bieten die Untersuchungsröhrchen ein Bild von äußerster Klarheit: Bei den negativen Seren bestehen die beiden Zonen wie zuvor, tiefblau oben und farblos unten. Die stark positiven Seren zeigen eine fast farblose Oberschicht, während die untere deutlich violett erscheint. In den schwach positiven Fällen beobachtet man stets ganz unverkennbar die Entfärbung des Blaues der oberen Schicht und die Verfärbung des Chloroforms in mehr oder weniger starkes Violett.

Die Autoren führten die Reaktion mit 3 Röhrchen aus: dem eigentlichen Versuchsröhrchen mit gefärbtem Antigen, einem Kontrollröhrchen mit nicht gefärbtem Antigen und einem dritten mit anderm Antigen, dem auch kein Farbstoff beigefügt war. Es wurden in allen Fällen Vergleiche mit der Original MTR, der WaR und SGR angestellt. Bei den 500 untersuchten Seren zeigten sich folgende Ergebnisse:

1. In 321 Fällen ergab sich Uebereinstimmung der Negativität.

2. In 124 Seren waren die positiven Resultate mathematisch gleich mit der Trübung und der gefärbten Reaktion.

3. In 11 % der Fälle ergaben sich Abweichungen, je-

doch nur, wenn man mit äußerster Strenge urteilte. Diese 11 % verteilten sich folgendermaßen: in 7 % (35 Seren) ergab die Trübung eine um 1 Grad stärkere Empfindlichkeit. In 2,2 % (11 Seren) ergab die gefärbte Reaktion eine um 1 Grad stärkere Empfindlichkeit. In 1,2 % (6 Fällen) war die Trübung um 2 Grad an Positivität stärker. In 0,6 % (3 Fällen) erwies sich die gefärbte Reaktion um 2 Grad stärker. Zieht man nur die Abweichung von 2 Grad in Betracht, so ergibt sich eine Uebereinstimmung der gefärbten MTR mit der ungefärbten in 98,2 %, Abweichungen in 1,8 % der Fälle.

Sainz de Aja und *Calvin* glauben mit ihrer Methode, indem sie die Technik des sofortigen Zentrifugierens mit erster Ablesung (durch Entfärbung des Blau) und zweiter Ablesung (durch Undurchsichtigkeit oder Durchsichtigkeit der Flüssigkeit) und dritter Ablesung nach Hinzufügen des Chloroforms vereinigten, die überhaupt nur mögliche Vervollkommnung, Einfachheit und Klarheit der MTR erreicht zu haben.

„Es fehlte der Methode nur noch die Objektivität der Farbe, und das erreicht man mit der Färbung des Antigens mit Viktoriablau. Es fehlte der Methode nur noch eine größere Schnelligkeit, ohne dafür verspätete Positivitäten entgehen zu lassen, und das ist es gerade, was unsere Technik des Zentrifugierens gleich nach der Mischung und der späteren Ablesung durch violette Färbung des Chloroforms erreicht hat".

Es war, wie schon einleitend erwähnt wurde, Aufgabe dieser Arbeit, an dem uns zur Verfügung stehenden Material zu prüfen, wie weit sich die Ergebnisse *Sainz de Ajas* und *Calvins* bestätigen ließen und welche praktische Bedeutung dieser neuen Methode zukommt.

Die zur Untersuchung gelangten Seren entstammten teils der Hautklinik, teils dem Material, das der Hautklinik von den übrigen Universitätskliniken und einigen praktischen Aerzten aus der Umgegend gestellt wurde. Ein größerer

Teil (400 Seren) wurde uns aus dem Untersuchungsmaterial der Behringwerke zur Verfügung gestellt durch die liebenswürdige Vermittelung von Herrn Dr. *Groß*, dem auch an dieser Stelle ergebenster Dank ausgesprochen werden soll.

Alle Seren wurden möglichst frisch untersucht, länger als 3 Tage alte Seren gelangten nicht zur Prüfung. Trübe, chylöse, hämolytische und ikterische Sera wurden stets mitverwendet.

Gearbeitet wurde, wie es bei der Nachprüfung einer Reaktion unbedingt erforderlich ist, genau nach den Vorschriften der Autoren. So untersuchten wir sämtliche Seren, soweit es nicht bei zu geringen Serummengen unmöglich war, mit zwei Extrakten, einem schwachen (Original-Meinicke-Extrakt Nr. 96) und einem starken Extrakt Nr. 105). Als Farbstoff benutzten wir Viktoriablau (Grübler), das wir den Extrakten jedesmal vor Anstellen der Reaktion in der von *Borowskaja* angegebenen Menge (0,2 auf 250,0 Teile Antigen) zusetzten. Der so gefärbte Extrakt stellt eine tiefblaue bis leicht violette klare Flüssigkeit dar. Nach Anwärmen der abgemessenen Mengen gefärbten Extraktes (1 ccm) und 3%iger Kochsalzlösung (10 ccm) im Wasserbade von 45° erfolgt möglichst schnelle Mischung der Reagenzien und Verteilen auf die das Serum enthaltender Röhrchen. Dieselben werden noch mit der Hand kurze Zeit geschüttelt, bleiben dann ungefähr 10 Min. ruhig stehen und werden darauf 5 Min. lang zentrifugiert. Wir arbeiteten beim Zentrifugieren durchschnittlich mit einer Tourenzahl von 2200 Umdrehungen bei 15 cm Radius. Unmittelbar nach dem Zentrifugieren nahmen wir die beiden ersten Ablesungen in der von den Autoren angegebenen Weise vor. Darauf wurde jedem Röhrchen 0,5 ccm Chloroform zugesetzt und zum letzten Mal nach 24 Stunden abgelesen.

Bei der Beurteilung aller Ergebnisse nahmen wir folgende Grade der Reaktionsintensität an: starke Positivität (+++), einfache Positivität (++), schwache Positivität (+) und Negativität (—).

An sämtlichen Seren wurden neben der Farbenmodifikation die Original MTR und die WaR, an den aus den Behring-Werken stammenden überdies noch Dold-, Bruck-, Kahn- und Citochol-Reaktion angestellt. Doch sollen die Ergebnisse der letzteren Reaktionen aus Gründen der Einheitlichkeit unberücksichtigt bleiben.

Wir untersuchten 1000 Seren und fanden dabei folgende Ergebnisse:

WaR	—	+	+	—	+	—	Eigenhemmung
ungef. MTR	—	+	—	+	—	—	—
gef. MTR	—	+	—	+	+	+	—
	854	125	4	11	3	2	1

Es reagierten übereinstimmend negativ nach WaR einerseits, beiden Meinicke-Reaktionen anderseits 854 Sera, sie stammten größtenteils von Nichtluetikern, in wenigen Fällen von stark behandelten Patienten oder solchen mit latenter Lues.

Uebereinstimmend positiv reagierten 125 Sera. Es handelte sich bei den meisten von ihnen um klinisch manifeste Lues im II. oder III. Stadium, in einigen Fällen um Lues congenita und Metalues.

Im ganzen fand sich also eine Uebereinstimmung zwischen der WaR und beiden Meinicke-Reaktionen in 979 Fällen.

Eine Differenz ergab sich in 15 Fällen. Davon reagierten nach der WaR positiv, nach den Meinicke-Reaktionen negativ 4 Seren. Es handelte sich zweimal um Lues latens; bei zwei Seren war eine Diagnose nicht angegeben worden.

Nach der WaR negativ, nach den Meinicke-Reaktionen positiv reagierten 11 Seren. Bei diesen war in 5 Fällen eine Lues klinisch festgestellt, die übrigen Fälle waren mit den Diagnosen: Ischias (1), Schizophrenie (1), Herzin-

suffizienz (1), Go-Verdacht (4) eingeschickt. Die Meinicke-Reaktionen ergaben also in 5 Fällen der WaR überlegene Resultate, in 7 Fällen erhielten wir mit ihnen unspezifische Ergebnisse. Es würde über den Rahmen der vorliegenden Arbeit hinausgehen, die eben angeführten vergleichenden Ergebnisse zwischen der WaR und den Trübungsreaktionen weiter zu besprechen. Vielmehr haben wir, da es sich um eine Modifikation der MTR handelt, unsere besondere Aufmerksamkeit der Zusammenstellung und dem Vergleich der ungefärbten und gefärbten Methoden zuzuwenden. Im folgenden seien die Ergebnisse einzeln aufgeführt:

1. Wie aus der obigen Tabelle ersichtlich ist, ergab sich bei 1000 untersuchten Seren übereinstimmend mit der Trübung und Farbenreaktion ein negatives Resultat in 859 Fällen.

2. Uebereinstimmend positiv nach der Trübungs- und Farbenreaktion reagierten 136 Sera. Davon stimmten in der Reaktionsintensität mathematisch genau überein 89 Sera, und zwar waren stark positiv 36 Sera, einfach positiv 31 Sera, schwach positiv 22 Sera. Bei 47 Seren ergaben sich graduelle Unterschiede im Ergebnis zwischen der Trübungs- und Farbreaktion, und zwar erwies sich die Trübungsreaktion empfindlicher um 1 Grad in 12 Fällen, um 2 Grad in 5 Fällen. Umgekehrt zeigte die Farbreaktion eine um 1 Grad größere Empfindlichkeit bei 18 Seren, um 2 Grad bei 12 Seren.

3. Eine Differenz im Ergebnis der Trübungs- und Farbenreaktion fanden wir in 5 Fällen. Sie sind in der obigen Tabelle in der 5. und 6. Reihe angegeben. Sie zerfallen in 2 Gruppen, und zwar finden wir in der ersten Gruppe 3 Fälle, in denen die WaR und Farbenreaktion positiv, die Trübungsreaktion negativ sind, in der 2. Gruppe finden wir 2 Fälle, in denen sowohl die WaR, wie die Trübungsreaktion negativ, die Farbenreaktion positiv sind.

In der 1. Gruppe handelt es sich um Fälle von alter

behandelter Lues. Während hier die Trübungsreaktion schon negativ ist, zeigt die Farbenreaktion noch das schwach positive Ergebnis der WaR an. Offenbar ist in diesen Fällen die Flockenbildung so schwach, daß sie mit dem bloßen Auge nicht mehr erkannt und nur durch die Färbung der Flocken noch nachgewiesen werden kann.

In den beiden Fällen der 2. Gruppe war es nur mit der Farbreaktion möglich, eine bestehende Lues nachzuweisen. Es handelt sich in beiden Fällen um einen 4 Wochen zurückliegenden Primäraffekt. Hier ist anzunehmen, daß, während die WaR überhaupt noch keine Ausschläge zeigt, bei der Trübungsreaktion die Flockenbildung so schwach ist, daß sie nur durch Färbung der Flocken eben zu Gesicht gebracht werden kann.

Fassen wir die vorliegenden Resultate zusammen, so läßt sich sagen, daß die gefärbte MTR sich in ihren Ergebnissen mit der ungefärbten Methode fast völlig deckt, auch die unspezifischen Ausschläge derselben gegenüber der WaR mitmacht, an Empfindlichkeit der ungefärbten Methode sogar um ein Geringes überlegen ist.

Die Gesamtbeurteilung des Reaktionsausfalles bei der Farbenmethode ergibt sich aus den bei den einzelnen Ablesungen gewonnenen Teilergebnissen. Wir konnten dabei folgende Beobachtungen machen:

Bei der ersten Ablesung unmittelbar nach dem Zentrifugieren hat als Kriterium für einen positiven Reaktionsausfall die Entfärbung der Flüssigkeit zu gelten. Die Ablesung dieses Ergebnisses ist leicht, und auch die graduellen Unterschiede zwischen verschieden stark entfärbten Seren vom Ungeübten gut zu beurteilen. Dagegen bereitet die diagnostische Verwertbarkeit des Ablesungsergebnisses oft einige Schwierigkeiten. Einem stark positiven Befund, d. h. einer vollkommenen Klärung der Flüssigkeit, entspricht stets auch eine, graduell allerdings nicht immer gleich starke Positivität des Serums. Eine völlige Entfärbung der Flüssigkeit in negativen Fällen haben wir nie be-

obachtet. Eine Entfärbung mittleren und schwachen Grades (++, +,) zeigten nach dem Abschleudern 141 Seren; von diesen erwiesen sich bei der 2. und 3. Ablesung nur 105 als wirklich positiv, die übrigen 36 als einwandfrei negativ. Wir würden also mit der ersten Ablesung allein 36% unspezifische Resultate erhalten haben. Bei einem größeren Teil dieser letzten Seren ergab sich mit der ungefärbten MTR nach 2—3 Stunden eine unspezifische Trübung, die bei vorzeitiger Ablesung ebenfalls zu Fehlresultaten geführt hätte.

Der beim Zentrifugieren sich bildende Bodensatz darf bei der Bewertung der Ergebnisse nicht berücksichtigt werden, da er sich sowohl in positiven wie in negativen Röhrchen bildet, wenn auch seine Farbe, Form und Menge dem Geübten gewisse Schlüsse erlauben.

Eine 2. Ablesung erhalten wir nach Aufschütteln des Bodensatzes. In den positiven Fällen löst sich derselbe auch bei starkem Schütteln nicht auf, sondern schwimmt in Form von wenigen groben oder zahlreichen feinen Flocken in der Flüssigkeit umher. Dabei bleibt die Flüssigkeit selbst entfärbt und durchsichtig. Im Gegensatz dazu löst sich in den negativen Röhrchen schon bei leichtem Schütteln der Bodensatz in Form feiner Wölkchen wieder auf, und die durch das Zentrifugieren klar gewordene Flüssigkeit wird undurchsichtig.

Sainz de Aja und *Calvin* legen bei dieser Ablesung den Hauptwert auf die Durchsichtigkeit oder Undurchsichtigkeit der Flüssigkeit. Nach unseren Erfahrungen kommt der Flockenbildung eine größere Bedeutung zu. In allen positiven Röhrchen war auch bei künstlichem Licht stets eine deutliche Flockenbildung erkennbar, während der Grad der Undurchsichtigkeit uns häufig im Stich ließ. Wir haben mit der zweiten Ablesung stets klare und zuverlässige Ergebnisse erhalten. Insbesondere konnten durch sie die oben erwähnten bei der ersten Ablesung entstandenen Fehler eliminiert werden.

Die dritte Ablesung, die schönste und eindrucksvollste, soll nach der Vorschrift der Autoren 24 Stunden nach Chloroformzusatz vorgenommen werden. Als positiv müssen dabei alle die Röhrchen angesehen werden, in denen die untere Flüssigkeitsschicht (Chloroform) nicht vollkommen farblos und klar ist, sondern je nach dem Grade des Reaktionsausfalles eine leicht rosa bis dunkelrote oder violette Färbung annimmt, und die obere Schicht je nach Reaktionsstärke Entfärbung oder vollkommene Klärung zeigt. Bei den negativen Seren bleibt die untere Schicht farblos und klar, die obere tiefblau und undurchsichtig.

Für einen guten und schnellen Reaktionsablauf ist es nach unseren Erfahrungen zweckmäßig, das Chloroform nicht zu schnell der Flüssigkeit zuzusetzen, sondern es langsam an der Wand der Reaktionsröhrchen hinablaufen zu lassen. Ferner muß in sämtlichen Röhrchen vor Zugabe des Chloroforms der Bodensatz vollständig aufgeschüttelt sein. Geschieht das nicht, so löst das Chloroform in den negativen Röhrchen den noch am Boden befindlichen Farbstoffniederschlagsrest auf, und der Reaktionsausfall wird unsicher oder falsch.

Was die Ablesungszeit angeht, so fanden wir, daß sich an dem nach 2 Stunden ergebenden Befund auch nach 24 Stunden nichts mehr änderte. In den allermeisten Fällen konnte ein sicheres Ergebnis schon nach 15 Min. abgelesen werden, nur in wenigen schwach positiven Fällen klärte sich der Befund erst in der nächsten Stunde.

Wir erhielten mit der Chloroformreaktion in allen Fällen schöne und klare, mit den Ergebnissen der 2. Ablesung fast immer auch graduell übereinstimmende Resultate.

Zusammenfassend kann über die einzelnen Ablesungen gesagt werden; daß die 1. Ablesung allein nur bei stark positivem oder negativem Ausfall genügende Sicherheit für die Beurteilung bietet, während einfach oder schwach positive Ergebnisse allein diagnostisch nicht zu verwerten sind. Bei einer Differenz der 1. und 2. Ablesung ist das Ergeb-

nis der 2. für die Diagnose aussschlaggebend. Die Ergebnisse der 2. Ablesung allein genügen für die Beurteilung des Reaktionsausfalles vollkommen, doch sollte wegen der Einfachheit und Sicherheit der Kontrolle auf die Probe mit Chloroform, besonders in zweifelhaften Fällen nicht verzichtet werden. Differenzen um 1 Grad in der Reaktionsintensität bei den verschiedenen Ablesungen kommen vor, sind aber für die Gesamtbeurteilung ohne Bedeutung. Größere Differenzen zwischen der 2. und 3. Ablesung haben wir nicht gefunden.

Bei unseren Untersuchungen mit abnorm gefärbten Seren fanden wir, daß dieselben mit der Farbenreaktion gute und zuverlässige Ergebnisse liefern. In trüben und chylösen Seren unterscheiden sich die Bilder bei den einzelnen Ablesungen in nichts von den normalen. Bei hämoglobingefärbten Seren entsteht in positiven Fällen nach dem Zentrifugieren volle Klärung, da die Flocken sowohl den Blaufarbstoff als auch das Hämoglobin an sich reißen, in negativen Fällen bleibt die Flüssigkeit braun. Bei ikterischen Seren entsteht in negativen Fällen eine eigenartig grünliche Farbmischung, in positiven ebenfalls völlige Klärung.

Wenn wir zum Schluß die Frage beantworten wollen, ob die Farbenreaktion eine für die Praxis brauchbare Verbesserung der Original MTR bedeutet, so müssen wir die Vor- und Nachteile der neuen Methode genau gegeneinander abwägen:

Als eine Verbesserung der MTR muß es betrachtet werden, daß man in der Zeit der Ablesung bei der Farbenreaktion viel unabhängiger ist, da die Ablesung auch bei schlechtem Tageslicht und bei künstlicher Beleuchtung vorgenommen werden kann.

Als eine Verbesserung der MTR müssen auch die guten Resultate, die abnorm gefärbte Sera mit der Farbreaktion liefern, sowie die etwas größere Empfindlichkeit der letzteren Reaktion in Rechnung gesetzt werden.

Der Hauptvorteil der Methode ist aber wohl der, daß es mit ihr möglich ist, in kürzester Zeit ein sicheres Urteil über den Ausfall der Reaktion zu erhalten.

Diesen ebengenannten Vorteilen der Farbenreaktion stehen auf der anderen Seite ebenso große Nachteile gegenüber. Vor allen muß gesagt werden, daß, was die praktische Verwertbarkeit der Farbmethode angeht, das Zentrifugieren doch wohl mancherorts Schwierigkeiten bereiten wird. Die meisten Zentrifugen sind nur für 6—8 Röhrchen eingerichtet. Bei einer größeren Zahl von Seren wird deshalb das Zentrifugieren längere Zeit dauern. Dabei ist der Stromverbrauch und die Abnutzung der Zentrifuge, weiterhin der Zeitverlust infolge des unbedingt nötigen Austarierens der Röhrchen gegeneinander in Rechnung zu setzen. Auch das Färben des Antigens, das vollständige Aufschütteln des Bodensatzes in den Röhrchen, sowie das Zugeben von Chloroform nimmt erheblich Zeit in Anspruch.

Für Institute, deren Hauptarbeit serologische Untersuchungen sind, bietet die neue Methode kaum irgend welche Vorteile, da es hier nur in den wenigsten Fällen darauf ankommt, möglichst schnell ein Urteil zu gewinnen.

Für die praktischen Aerzte, denen die Methode infolge ihrer kurzen Dauer und großen Zuverlässigkeit einige Vorteile bieten kann, kommt sie nur selten in Frage, da die wenigsten von ihnen über eine elektrische Zentrifuge verfügen.

So muß denn zusammenfassend gesagt werden, daß die praktische Verwertbarkeit der neuen Methode doch eine recht zweifelhafte ist. Als voller Ersatz für die MTR kann sie zur Zeit noch nicht in Frage kommen. Dagegen ist ihre Ausführung überall dort am Platze, wo es auf eine möglichst schnelle Diagnose ankommt, und die Anstellung der Farbreaktion technisch möglich ist. In allen Fällen bietet die Farbenreaktion zur vorläufigen Schnelldiagnose genügende Zuverlässigkeit. Selbstverständlich darf auf die Nachuntersuchung mit der WaR oder anderen Trübungsreaktionen nie verzichtet werden.

Zusammenfassung.

1. Die MTR mit gefärbtem Antigen und sofortigem Zentrifugieren gibt schöne und klare, mit der ungefärbten Methode gut übereinstimmende Resultate. Die Farbreaktion macht auch die unspezifischen Ausschläge der MTR gegenüber der WaR mit. An Empfindlichkeit erwies sich die Färbung gegenüber der Trübung um ein Geringes überlegen.

2. Die gefärbte MTR ist bei künstlicher Beleuchtung gut ablesbar und gibt auch bei abnorm gefärbten Seren klare Resultate.

3. Von den einzelnen Ablesungen bei der Farbreaktion ist die zweite Ablesung die ausschlaggebende.

4. Mit der Farbreaktion ist es möglich, schon in 15 bis 20 Minuten ein zuverlässiges Urteil über den Reaktionsausfall zu gewinnen, ohne daß uns verspätete Positivitäten entgehen.

5. Eine praktische Bedeutung als Ersatz der ungefärbten MTR kommt der Farbenmethode nicht zu, da die mit derselben verbundenen Unannehmlichkeiten insbesondere des Zentrifugierens die gewonnenen Vorteile nicht aufwiegen.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. *Ruete* für die freundliche Ueberlassung der Arbeit sowie für weitgehendes Entgegenkommen meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

Meinicke, Ernst: Ueber eine neue Methode der serologischen Luesdiagnose. Vortr. in der Berl. med. Ges., 23. Mai 1917. Ref. Berl. klin. W 1917, S. 613 und 1208.

Meinicke, Ernst: Ueber eine Methode des Antikörpernachweises. Vortrag, Berlin 7. Nov. 1917. Ref. D. m. W. 1917. S. 1518.

Meinicke, Ernst: Ueber die dritte Modifikation meiner Luesreaktion. M. m. W. 1919 S. 932.

Meinicke, Ernst: Eine neue Trübungsreaktion für Syphilis. (I. Mitteilung). D. m. W. 1922, Nr. 12 S. 384.

Meinicke und Grün: Meinickes Trübungsreaktion auf Syphilis mit cholesterinfreien Balsamextrakten. (II. Mitteilung). D. m. W. 1923, Nr. 2, S. 43.

Meinicke und Grün: Die Serodiagnose der Syphilis in der Hand des prakt. Arztes. (III. Mitteilung). D. m. W. 1923, S. 605.

Meinicke: Die Lipoidbindungsreaktion. (I. Mitteilung). Ztchr. f. Immunforschg. 27. 350. (1918).

Meinicke: Die Lipoidbindungsreaktion. (II. Mitteilung). Zschr. f. Immunforschg. 38. 820 (1919).

Meinicke: Eine neue Syphilisreaktion (M. k. R.) klin. Wschr. 1929, Nr. 3.

Meinicke, E.: Zur Kenntnis meiner Trübungsreaktion auf Syphilis. (MTR) Klin Wschr Jg. 9., Nr. 40. S. 1867. (1930).

Dohnal, P.: Meinicke-Mikroreaktion. Dermat. Wschr. 1923. Nr. 34. S. 1029.

Elkeles: Die Kuppenablesung der MTR. D. m. W. 1924. S. 753.

Joel: Zur Theorie der Meinickeschen Reaktion. Zschr. f. Immunforschg. 1920 Bd. 29. S. 249.

Tannenberg: Beiträge zur Theorie und Praxis der SGR und WaR. Zschr. f. Immunforsch. 1921. Bd. 32. S. 381.

Dold: Drei Serum-Farbstoffphänomene: Klin. Wschr. 1922, Nr. 24, S. 1210.

Hecht: Farbenkolloide im Dienste der Serologie. Med. Klinik 1922 Nr. 14. S. 439.

Kafka: Ueber die neuen Ausflockungsreaktionen zur Luesdiagnostik in Blut und Liquor. Dermatol. Wschr. 1920. Bd. 70. Nr. 25, S. 385.

Epstein und Paul: Ueber die chemische Zusammensetzung der bei den serologischen Luesreaktionen gebildeten Flocken. D m. W. 1922, Jg. 48. Nr. 3, S. 89.

Mierzecki, H.: Verwendung von Farben bei der Luesreaktion. Polska gaz. lekarska. Jg. 1. S. 334. 1922 (Polnisch) Ref. Zbl. f. H. u. G. Bd. 6 S. 288.

Mierzecki, H.: Ueber Farbenversuche und Farbenmodifikationen bei Ausflockungsreaktionen zur Serodiagnose der Syphilis. Dermatol. Wschr. 1923. Bd. 77. S. 1202.

Post, W.: Ueber die Meinicke-Mikroreaktion. Dermatol. Zschr. Bd. 45, S. 302. (1925).
Herxheimer, K.: Ueber die Ablesung der serodiagnostischen Trübungsreaktion. Archiv f. Dermatol. u Syphilis. Bd. 160. S. 209 (1930).
Borowskaja, W.: Die Meinicke T. R. mit gefärbtem Antigen. Zbl. Bakteriol. Bd. 105. S. 455. (1928).
Perantoni-Satta, Gavino: La reazione di intorbidamento die Meinicke con antigene colorato e suo valore chlinico. Studi sassar. 7, 233—236 (1929). Ref. Zbl. f. H. u. G. Bd. 33. S. 208.
Klingberg, Otto: Zur Färbung des Antigens für die MTR nach Borowskaja. Zbl. f. Bakteriol. Bd. 111, S. 495 (1929).
Stepowski und Wroblewski: Versuche mit gefärbtem Antigen bei der Meineckeschen Trübungsreaktion. Med. Klinik 1929. II. S. 1174.
Occhioni, P.: La reazione di Meinicke con antigeno colorato. Giorn. Batter 4. 236—241. (1929). Ref. Zbl. f. H. u. G. Bd. 31. S. 651.
Ciarrocchi, Luigi.: Sulla reazione di Meinicke con antigeno colorato. Rinase. med, 6, 161—163. (1929). Ref. Zbl. f. H. u. G. Bd. 31, S. 372.
Cattaneo, L.: Sulla reazione di Meinicke con antigeno colorato. Boll. Coc. med-chir. Pavia. H. 6. S. 1051. Ref. Zbl. f. H. u G. Bd. 31. S. 106.
Kirscher, Janos.: Meinicke'sche Trübungsreaktion mit gefärbtem Extrakt. Orv. Hetil. 1928. II. S. 1189 (Ungar.) Ref. Zbl. f. H. u. G. Bd. 31. S. 105.
Jakobsthal: Die WaR. eine Präcipitationsreaktion. M. m. W. Nr. 50. S. 2607.
Gaethgens: Ueber die Ausflockungsreaktionen von Sachs-Georgi und Meinicke (D. M.) zur Serodiagnostik der Syphilis. Archiv. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. 129. S. 467 (1921).
Ruete: Ueber die Brauchbarkeit von Meinickes D. M. M. m. W. Jg. 69, Nr. 3. S. 83—85. 1922.
Sainz de Aja und Nicolas Calvin: Die Meinicke-Reaktion mit sofortigem Zentrifugieren und gefärbtem Antigen. Archiv f. Dermatol. u. Syph. Bd. 158, S. 485, 1929.
Sainz de Aja und Nicolas Calvin: Meinicke Trübungsreaktion (ihr Wert und persönliche Abänderungen). Siglo med. 82, S. 255, 1928. Ref. Zbl. f. H. u. G. Bd. 29, S. 354.

Lebenslauf.

Am 9. August 1904 wurde ich, Karl Schlüter, zu Hallenberg i. Westf. als Sohn des prakt. Arztes Heinrich Schlüter und seiner Frau Elisabeth, geb. Mues geboren. Meine Gymnasialausbildung erhielt ich am Gymnasium zu Paderborn, wo ich 1923 die Reifeprüfung bestand. Ostern 1924 bezog ich die Universität Marburg, wo ich Ostern 1927 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Das Wintersemester 1926/27 verbrachte ich in München, das Sommersemester 1928 in Wien. Am 4. April 1930 beendete ich in Marburg das medizinische Staatsexamen. Vom 15. April bis 1. Oktober 1930 war ich als Medizinalpraktikant am Städtischen Krankenhaus in Gevelsberg i. Westf.; seit dieser Zeit bin ich als Medizinalpraktikant an der Univ. Hautklinik in Marburg tätig.

Meine akademischen Lehrer waren

in Marburg: v. Auwers, Bonhoff, Burckhardt, Claussen Dittler, Denecke, Eimer, Freudenberg, Göppert, Grüter, Gürber, Hildebrandt, Kehrer, Klewitz, Korschelt, Kretschmer, Kutscher, Läwen, E. Müller, Nauck, Naujoks, Neumann, Ruete, Schäfer, Schenk, Schubert, Schwenkenbecher, Uffenorde, Veit, Versé, Wiedhopf.

in München: Borst, Frank.

in Wien: v. Eiselsberg, Kermauner, Pick, Wenkebach.